Lane Medical Library

# Untersuchungen über Phagocytose im Dienste der klinischen Mikroskopie

---

## Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der
MEDIZINISCHEN DOKTORWUERDE
an der
Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Berlin

vorgelegt von

Johannes Sasse
aus Berlin

Tag der Promotion: 17. 11. 1925

Gebr. Hoffmann, Charlottenburg, Schillerstr. 44.

89

Lane Medical Library

Gedruckt mit Genehmigung

der

Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. Goldscheider.
Referent: Prof. Dr. Lubarsch.

Die Phagocytentheorie knüpft sich an den Namen Metschnikoffs. Metschnikoff unterscheidet mobile und fixe Phagocyten. Als mobile Phagocyten findet er ein- und mehrkernige Leukocyten und sogenannte Wanderzellen der Gewebe, als fixe viele Endothelzellen, Pulpazellen der Milz und des Knochenmarkes, junge Bindegewebszellen und in seltenen Fällen auch Nervenzellen (Ganglienzellen bei Lepra) und Muskelzellen.

Von großem Interesse für die klinische Medizin zum Zwecke von Laboratoriumsuntersuchungen sind von den mobilen Phagocyten die weißen Blutzellen, die im Kampfe gegen die Bakterien als Phagocyten eine wichtige Rolle spielen. Viele namhafte Forscher prüften diese Fähigkeit der weißen Blutkörperchen.

Im Jahre 1899 gibt Hamburger eine Methode an zur Prüfung von venöser Stauung und Kohlensäure auf die Aufnahmefähigkeit der Phagocyten. Zu diesem Zwecke versah er Kapillarröhrchen mit einer Kultur und legte dieselben in entsprechende Hauttaschen der beiden Vorderpfoten eines Tieres. Dann wurden die etwa 24 Stunden nachher hineingetretenen weißen Blutkörperchen entfernt und man konnte für die beiden Pfoten untersuchen wieviel Prozent der weißen Blutkörperchen Bakterien aufgenommen hatten. Er nahm dazu eine Kultur in Serum von Bazillusanthrax. Als Versuchstier wurde ein Hund genommen und auch hier wurde wieder darauf geachtet, daß die Röhrchen erst in die Hauttaschen gebracht wurden, nachdem die Blutung völlig aufgehört hatte. Die Präparate wurden mit Methylenblau gefärbt.

Nimmt man das Mittel, so stellt sich heraus, daß von den zweihundert weißen Blutkörperchen in der normalen Pfote zweihundert und in der Stauungspfote einhundertundneunzig Leukocyten Milzbrandbazillen aufgenommen haben; ein Unterschied welcher nahezu innerhalb der Grenzen der Beobachtungsfehler fällt. Er stellt keinen nennenswerten Einfluß der Phagocytose durch venöse Stauung fest.

Im Anfang des 20. Jahrhunderts erkennt Wright an, daß die Hauptwaffe, durch welche der Organismus sich der schädlichen Infektionserreger zu entledigen sucht, in Phagocyten besteht. In seinem Buch, „Studien über Immunisierung" stellt er fest, daß aber die Blutflüssigkeiten bei der Phagocytose eine wichtige Rolle spielen. Und zwar sind es thermolabile Stoffe im normalen Blutserum, Opsonine, welche auf die Bakterien im Organismus schädigend wirken und sie zur Phagocytose vorbereiten. 9

Ich möchte auf diesen Punkt nicht weiter eingehen, da er in dieser Arbeit nur eine nebensächliche Rolle spielt.

Als einziges Kriterium dient bei seinem Studium der Opsonine der Blutflüssigkeiten das Aufgefressen werden der Krankheitserreger.

Bei seinen Versuchen kam eine Modifikation, der von Leishman ausgearbeiteten Methode zur Messung der phagocytären Kraft des Blutes zur Anwendung.

Nachdem von diesem Autor beschriebenen Verfahren werden gleiche Volumina einer Bakteriensuspension von geeigneter Stärke und durch Fingerstrich gewonnenen Blutes in einer Kapillare abgemessen, auf dem Objektträger gemischt und mit einem Deckglas zugedeckt. Dieses Gemisch bleibt fünfzehn Minuten im Inkubator bei Bluttemperatur stehen. Das Deckglas wird dann, wenn nötig, durch einen Tropfen physiologischer Kochsalzlösung vom Objektträger abgelöst und Deckglas und Objektträger durch eine schnelle herüberziehende Bewegung voneinander getrennt. Die so erhaltenen Präparate werden durch Leishmans Modifikation der Romanowskischen Färbemethode gefärbt und dann unter eine Immersionslinse gebracht. Durch Zählung der in einer Anzahl polynuklärer weißer Blutkörperchen vorhandenen Bakterien und entsprechende Teilung wird ein Durchschnitt gezogen, der als das Maß der phagocytären Kraft des Blutes gilt. In den Kontrollversuchen wird dieses Resultat mit der phagocytären Kraft des normalen Blutes verglichen. Er modifizierte diese Methode in der Weise, daß er a) die Phagocytose in Kapillarpipetten vornahm und nachträglich mikroskopische Präparate auf dem gewöhnlichen Wege herstellte.

b) das Blut durch Natriumzitrat entkalkte, wodurch die durch Kagulation entstehenden Schwierigkeiten wermieden und die Mög-

lichkeit gegeben wurde, die weißen Blutkörperchen durch Zentrifugieren, Abheben und erneutes Auswaschen zu isolieren.

Drei verschiedene Verfahren, die nur in Kleinigkeiten voneinander abweichen, wurden bei seinen Versuchen zur Anwendung gebracht.

Das I. Verfahren ist anzuwenden in solchen Fällen, wo ein Vergleich bezweckt wird zwischen Blutarten verschiedenen Ursprungs oder Blutproben, die verschieden behandelt worden sind.

Hierbei kommt eine einfache Kapillarpipette zur Verwendung, die mit einer Gummispitze versehen ist und am Stiel ein Fettstiftzeichen trägt. Er aspiriert in den Stiel der Pipette, indem er je ein Volumen Blut (aus dem Finger), einprozentige Natriumzitratlösung in physiologischer Kochsalzlösung und Bakteriensuspension (kann 1 ccm ca 10 000 000 000 Bakterien enthalten), welch letztere durch Aufschütteln einer vierundzwanzigstündigen Agarkultur in physiologischer Kochsalzlösung und zentrifugieren zum Entfernen von Bakterienklumpen gewonnen wurde. Diese drei gleichen Volumina, Blut, Bakteriensuspension und Natriumzitratlösung, werden durch wiederholtes Ausstoßen auf einen Objektträger und Wiederaufziehen sorgfältig gemischt. Ein aliquoter Teil dieser Mischflüssigkeit, wie er für seine Zwecke ausreichend erscheint, wird in den Kapillarstiel wieder aufgezogen und die Oeffnung der Kapillaren in der Flamme zugeschmolzen. Die Pipette wird alsdann im Inkubator oder Wasserbade auf 37° eingestellt. Nach Verlauf von fünfzehn Minuten wird das untere Ende der Kapillaren abgebrochen, der Inhalt wiederholt sorgfältig gemischt und Präparate angefertigt, die nach Leishmans Färbemethode behandelt werden.

Das II. Verfahren ist anzuwenden In Versuchen zur gesonderten Erforschung der Rolle der weißen Blutkörperchen und der Blutflüssigkeiten bei Phagocytose und zum Studium der durch experimentelle Modifikation jedes dieser Elemente hervorgerufénen Wirkung.

Er führt in eine Kapsel mit hakenförmig zurückgekrümmten Stiel soviel Quecksilber ein, daß die Kapsel zu ein Drittel gefüllt ist; der Punkt, der mit dem oberen Meniskus des Quecksilbers korrespondiert, wird mit einem Fettstift markiert und das Quecksilber so verschoben, daß es statt des unteren Drittels die

Mitte der Kapsel einnimmt. Die obere Grenzlinie des Quecksilbers ist hier wieder mit dem Stift anzuziehen. Das Quecksilber wird nun entfernt und der zurückgekrümmte Stiel in der Flamme zu einem seitlichen Henkel umgebogen. Hierdurch ist es möglich aus einem gefüllten Uhrglase, durch einfaches, das gefüllt bereitstehen muß, die Natriumzitratlösung in die Kapsel hineinzubringen. Mit dieser Flüssigkeit wird die Kapsel bis zum ersten Markierungspunkt gefüllt und dann dem Finger so viel Blut entnommen und in die Kapsel eingeführt, daß die kombinierten Volumina, Natriumzitratlösung und Blut, das zweite Zeichen erreichen. Nach Zuschmelzen der oberen Mündung in der Flamme, wobei durch Einwirkung der Hitze die Luft aus dem Innern der Kapsel verdrängt wird, wird der Inhalt aufgeschüttelt und die Kapsel in der Zentrifugiermaschine aufgehängt. Sobald durch das Zentrifugieren die Blutkörperchen sich am Boden festgesetzt haben, wird das oben befindliche zitrierte Plasma entzogen und durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt. Zur Einführung dieser verwendet er eine Kapillarpipette und senkt deren Mündung bis auf den Boden der Kapsel hinab, damit die Blutkörperchen und die frisch eingeführte Flüssigkeit sogleich eine gründliche Mischung erfahren. Auf diese Weise wird dreimal gewaschen und zentrifugiert. Die oberen Schichten der Blutkörperchenablagerung, in denen weiße Blutkörperchen in relativ großen Mengen vorhanden sind, ergeben das phägocytäre Versuchsmaterial.

In den späteren Versuchen wurden immer drei Volumina ausgewaschen, Blutkörperchenablagerung mit drei Volumen Blutflüssigkeit, einem Volumen Staphylokokkensuspension, die gewöhnlich 7000—10000 Millionen Staphylokokken in einem Kubikzentimeter enthielt, verwandt. Das Gemisch Blutkörperchen, Blutflüssigkeit und Staphylokokken wurde stets fünfzehn Minuten lang auf 37° C eingestellt, um das Zustandekommen der Phagocytose zu ermöglichen.

Verfahren III ist anzuwenden in solchen Fällen, wo die Darstellung von zitriertem Serum zum Vergleich mit dem bei Verfahren II erhaltenen zitrierten Plasma bezweckt ist.

Wünscht er zitriertes Serum zu Vergleichszwecken mit dem bei Verfahren II erhaltenen zitrierten Plasma zu erhalten, so teilt er die Blutkapsel in genau derselben Weise ein. Nachdem er mit

Blut aus dem Finger bis zum ersten Zeichen aufgefüllt hat, läßt er das Blut gerinnen und fügt mit einer Kapillarpipette soviel Natriumzitratlösung hinzu, daß das Ganze bis zum zweiten Zeichen reicht. Nun wird aufgeschüttelt und zentrifugiert. Das Kaliber der Kapillaren muß gleich sein. Augenmaß genügt in diesem Falle.

Auf Wrights Resultate möchte ich nicht eingehen, da sie uns zu sehr vom eigentlichen Thema abbringen würden.

In seinem Werk „Physikalisch-chemische Untersuchungen über Phagocyten" aus dem Jahre 1912 hebt H. J. Hamburger hervor, daß die Phagocyten nicht nur von einem praktischen Gesichtspunkte aus, sondern auch aus theoretischem unsere besondere Aufmerksamkeit verdienen, weil sie einfache Protoplasmaform darstellen, die sich ohne Läsion leicht isolieren und studieren läßt, und weil man in ihrer amöboiden Bewegung, wie in ihrem phagocytären Vermögen ein ausgezeichnetes Mittel besitzt, zu kontrollieren, inwieweit die Einwirkungen, denen man sie unterwirft, das Leben beeinflussen.

Er berichtet über den Einfluß den Aenderungen des normalen Mediums auf das Leben der Phagocyten ausüben, oder genauer gesagt, auf deren phagocytäres Vermögen.

Die angewandte Methode war, abgesehen von einigen unwesentlichen Aenderungen, dieselbe, die er 1899 angegeben und angewandt hat. Sie bestand darin, daß ermittelt wurde, wieviel Prozent der in einer Aufschwemmung vorhandenen Pferdeleukocyten imstande waren, Kohlepartikelchen aufzunehmen. Diese Zahl war das Maß für den Grad der Phagocytose und damit ein Ausdruck für den Einfluß verschiedener Agentien auf die genannte Lebenstätigkeit.

Es wurde dabei eine indifferente Substanz-Kohle und keine Mikroorganismen gewählt, weil in diesem Falle die Verhältnisse viel komplizierter liegen. Man denke nur an die von Wright gefundene Tatsache, daß Bakterien, um in die Phagocyten aufgenommen werden zu können, mit gewissen Substanzen, sogenannten Opsoninen, beladen sein müssen.

Hieraus geht hervor, daß außer dem zu untersuchenden Agenz auch der Grad der Vorbereitung der aufgenommenen Organismen oder Zellen von Einfluß auf den Umfang der Phagocytose sein muß. Dazu kommt, daß die Bakterien Gifte abscheiden

können, welche die Phagocytose beeinträchtigen; also wieder ein neuer Faktor. Selbst tote Bakterien sind nicht indifferent.

Aus diesen Gründen nimmt er Kohle. Die erfolgte Aufnahme der Kohle ist auch leicht und sicher zu konstatieren.

Er benutzt Pferdeleucocyten und gewinnt sie auf zwei Wegen: Aus defibriniertem oder nicht defibriniertem Blut, dessen Gerinnung mittels Natriumzitrat verhindert wird.

Methode der Gewinnung aus defibriniertem Blut.

Das durch Aderlaß aus der Vena jugularis strömende Blut wird in mit Glasscherben beschickte Flaschen aufgefangen und solange tüchtig geschüttelt, bis das Fibrin sich abgeschieden hat. Gewöhnlich genügen hierzu zehn Minuten. Das Fibrin mit den fast immer in demselben eingeschlossenen Glasscherben wird mittels Kolieren durch Gaze entfernt. Dann wird das Blut in hohe Zylindergläser gebracht und eine halbe bis eine ganze Stunde sich selbst überlassen. Nach dieser Zeit kann man drei Schichten unterscheiden. Die untere Schicht, welche ungefähr die Hälfte der ganzen Flüssigkeitssäule einnimmt, besteht hauptsächlich aus roten Blutzellen. Auf dieser unteren roten Schicht ruht eine schmale, weiße, welche fast ausschließlich aus weißen Blutzellen zusammengesetzt ist. Die dritte und obere Schicht besteht aus einem trüben Serum, in welchem sehr viele rote und weiße Blutkörperchen enthalten sind. Diese Schicht wird mittels einer mit Gummischlauch versehenen Pipette abgehoben. Das nämliche geschieht auch möglichst vollständig mit der zweiten Schicht.

Es sei besonders hervorgehoben, daß man mit der Absaugung der beiden oberen Schichten nicht zu lange warten soll. Es bildet sich sonst eine kompakte, mittlere Schicht, welche eine zu große Anzahl Leukocyten enthält; sie ist dann schwierig abzuheben, was umsomehr zu bedauern ist, weil diese Schicht gerade so reich an Phagocyten ist.

Wenn also die rote Schicht deutlich sich abzugrenzen anfängt, so ist empfehlenswert abzusaugen. Nach einiger Uebung lernt man sehr bald den Zeitpunkt zu bestimmen, an dem man abpipettieren muß. Jetzt wird die trübe Flüssigkeit einige Zeit zentrifugiert. Kräftiges und langes Zentrifugieren soll vermieden werden, weil sonst die Leukozyten zu sehr miteinander verkleben. Für ge-

wöhnlich genügte eine Bewegung von drei Minuten in einer Runneschen Wasserzentrifuge bei einer Tourenzahl von 600 bis 800 Umdrehungen pro Minute, um die Formelemente auf den Boden der Röhren zu schleudern. Sollte das aber noch nicht vollständig erreicht sein und die obenstehende Flüssigkeit noch etwas trübe erscheinen, so kann man dieselbe doch unschwer abheben, weil durch die große Senkungsgeschwindigkeit der Phagocyten von diesen Zellen nur wenige noch in der Flüssigkeit vorhanden sind. Jetzt wird das über dem Bodensatz stehende klare oder nahezu klare Serum zum größten Teil entfernt und das rückständige Serum durch Hin- und Herbewegen mit dem Bodensatz vermischt. Die auf diese Weise erhaltene Aufschwemmung kann nötigenfalls für die Experimente verwendet werden. Sie enthält aber immer noch viele Erythrocyten, die man besser möglichst entfernt, weil sie sich bei der Zählung der Leucozyten in störender Weise geltend machen. Zur Entfernung der roten Zellen fügt man die soeben erhaltene Suspension aus verschiedenen Zentrifugiergläsern zusammen und überläßt das Gemisch sich selbst während einer halben bis einer Stunde. Es senken sich die roten Blutzellen zu Boden, während die Mehrzahl der Leucocyten in Suspension bleibt. Auf diese Weise hat man eine Flüssigkeit bekommen, in der sich wieder weniger rote Blutkörperchen befinden als vorher. Es liegt auf der Hand, daß man mit der Abpipettierung auch hier nicht zu lange warten darf, weil sonst zu viele weiße Blutkörperchen sich zu Boden senken.

Bei mikroskopischer Betrachtung der Suspension findet er drei Arten von Leukocyten.

1. Große Zellen mit großen Körnern (Mastzellen)
2. Mittelgroße Zellen
3. Kleine Zellen (Lymphocyten).

Nur die mittelgroßen sind phagocytär.

In der Biochemischen Zeitschrift Nr. 11 1908 schlägt E. Heckma ein Verfahren vor zu Gewinnung von Leukozyten aus nicht defibriniertem Blut. Das Prinzip bestand darin, daß das Blut aus der Ader in das gleiche Volumen einer isotonischen Kochsalzlösung aufgefangen wird, in der sich 0,4% zitronensaures Natron befindet. Zwar ist das zitronensaure Natron nicht ohne Einfluß auf den Umfang der Phagocytose. Dieselbe wird näm-

lich dadurch herabgesetzt. Diese Herabsetzung kann jedoch wieder vollständig aufgehoben werden, wenn man die Zellen mit isotonischer Kochsalzlösung auswäscht.

Nachdem dann das Pferdeblut in der zitrathaltigen Kochsalzlösung aufgefangen war und die roten Blutkörperchen sich gesenkt hatten, wurde die gelbe, trübe, leukocytenreiche Flüssigkeit abgehoben und in einer Runneschen Wasserzentrifuge, die etwas achthundert Umdrehungen in der Minute macht, während drei Minuten zentrifugiert. Nach Abheben des größten Teiles der obeern Flüssigkeit wurde vorsichtig umgeschüttelt, eine 0,9 %ige Kochsalzlösung hinzugefügt, während zweieinhalb Minuten zentrifugiert, die Flüssigkeit abgehoben, das Sediment wieder mit 0,9 %iger Kochsalzlösung ausgewaschen und endlich wurden die Sedimente der verschiedenen Röhrchen miteinander vermischt.

Nach Hekma genügte 0,4 Prozent zitronensaures Natron in 0,9 %iger Kochsalzlösung, um das Blut während zwölf Stunden flüssig zu halten. Jedoch selltte sich bei seinen vielfachen Versuchen heraus, daß sich nach dieser Zeit feine Fibrinfäden gebildet hatten, die zwar keine mikroskopisch sichtbare Gerinnung herbeiführte, aber doch ein Zusammenkleben von Phagocyten verursacht hatten. Dadurch schlugen viele Versuche fehl. Bei Anwendung einer 0,6 %igen Zitratlösung in 0,9 %iger Kochsalzlösung konnte diesem Uebelstand vollständig vorgebeugt werden. Ein höherer Zitratgehalt war niemals nötig. Nach Angaben von Hekma erfahren durch eine 1%ige Zitratlösung die Phagocyten eine bleibende Schädigung. Viele Phagocyten hatten das phagocytäre Vermögen eingebüßt nach Ueberführung der mit Zitratlösung behandelten Leukocyten in eine 0,9 %ige Kochsalzlösung.

Nach dem Befunde von Wright sollen die Phagocyten des Menschen sogar zwei bis dreiprozentige Zitratlösungen ertragen können, ohne geschädigt zu werden.

Später hat Hekma das relative Volumen von Blut und Zitratlösung noch etwas geändert, ohne jedoch die auf das Gesamtvolumen berechnete Zitratkonzentration zu modifizieren.

Es hat sich nämlich herausgestellt, daß die Senkungsgeschwindigkeit der korpuskulären Elemente bei verschiedenen Pferden starke individuelle Schwankungen aufweist. Sehr oft war beim Verwenden gleicher Volumen, Zitratlösung und Blut, die Tren-

nung zwischen Blutkörperchen und Plasma eine so langsame, daß es kaum möglich war, eine genügend große Menge leukocytenhaltigen Plasmas abzuheben, denn dann hatten sich zu der Zeit, als sich eine genügend hohe Plasmaschicht gebildet hatte, auch die meisten Leucocyten schon aus dieser auf die Erythrocytenschicht abgesetzt.

Diese Schwierigkeit wurde völlig vermieden, als er das Verhältnis zwischen dem Volumen, Zitratlösung und Blut, in der Weise abänderte, daß zu einem Teil Zitratlösung, statt ein Teil Blut, drei Teile Blut zugesetzt wurden. Dadurch wurde es natürlich notwendig, für die Zitratlösung eine konzentriertere zu nehmen als 0,6 %. Demnach wurden drei Volumina Blut aufgefangen in ein Volumen einer 0,7 %igen Kochsalzlösung, in der 1,1% Zitrat aufgelöst war. Nach dieser Methode wurde bei späteren Versuchen häufig verfahren.

H. J. Hamburgers Methode der Gewinnung von Leukocyten aus nicht defibriniertem Blut bestand darin, daß er einen Meßzylinder von einem Liter Inhalt mit 250 Kubikzentimeter einer 0,7 %igen Kochsalzlösung beschickt, in der 1,1% zitronensaures Natron aufgelöst worden ist. In diese Flüssigkeit werden nahezu 750 Kubikzentimeter des aus der Vena jugularis strömenden Blutes aufgefangen. Nach Vermischung wird die Suspension sich selbst überlassen, und die roten Blutkörperchen senken sich bald zu Boden, während eine gelbe, trübe Flüssigkeit zurückbleibt. Dieselbe enthält die Leukocyten und eine sehr große Menge Blutplättchen.

Um die Leukocyten zu gewinnen, wird, wie gesagt, die trübe Flüssigkeit in einer Runneschen Wasserzentrifuge, die etwa achthundert Touren in der Minute macht, während drei Minuten gedreht. Nach Abhebung des größten Teiles der oberen Flüssigkeit, die fast ganz aus Blutplättchen besteht, wird eine 0,9 %ige Kochsalzlösung hinzugefügt, dann vorsichtig umgeschüttelt, wieder zweieinhalb Minuten zentrifugiert, die Flüssigkeit abgehoben und aufs neue mit 0,9 %iger Kochsalzlösung versetzt. Nach abermaligem Zentrifugieren wird die Flüssigkeit wieder fast ganz entfernt und schließlich werden die Sedimente der verschiedenen Röhrchen miteinander vermischt. Von der so erhaltenen leukocytenreichen Suspension werden dann mittels einer

Kapillare 0,4 Kubikzentimeter der zu untersuchenden Lösungen bracht. Diese Lösungen befanden sich in gewöhnlichen gläsernen Zentrifugierröhrchen.

Nachdem die Leukocyten eine gewisse Zeit der Einwirkung der zu untersuchenden Flüssigkeit bei Zimmertemperatur ausgesetzt gewesen sind, wird ein Kubikzentimeter der nunmehrigen Suspension abgemessen und in ein mit Glasstöpsel versehenes Zylindergläßchen von etwa zwei Kubikzentimeter Durchmesser und etwa 20 Kubikzentimeter Inhalt gebracht. Dann wird eine gewisse Menge Kohle hinrzugesetzt, die sich in einem Glasnäpfchen mittels Abstreichen leicht abmessen läßt. Man schüttelt vorsichtig, bis die Kohle sich gleichmäßig verteilt hat. Jetzt fügt man noch 2 Kubikzentimeter der Leukocytenaufschwemmung hinzu und schüttelt abermals, um ein gleichmäßiges Gemisch zu bekommen. Im Ganzen befinden sich also im Zylindergläßchen drei Kubikzentimeter kohlehaltiger Leukocytensuspension.

Die Beschickung mit Kohle zu verschiedenen Zeiten geschieht, um möglichste Gleichmäßigkeit zu erreichen, ohne zu starkes Schütteln. Sämtliche Zylindergläßchen mit Kohleleukocytensuspensionen werden jetzt im Brutschrank einer Temperatur von $37^0$ ausgesetzt. Die Flaschen werden alle zehn Minuten aus dem Brutschrank genommen und vorsichtig hin- und herbewegt, um eine möglichst gleiche Mischung und Berührung von Leukocyten und Kohle zu gestatten. Im Ganzen verweilen die Gläschen $^1/_2$—1 Stunde im Brutschrank. Nachher werden sie alle zu gleicher Zeit an einen kühlen Ort hingestellt.

Ein oder mehrere Stunden nachher werden mikroskopische Präparate angefertigt. Hierzu ist es notwendig, die Aufschwemmung erst gut zu bewegen; denn insbesondere senken sich die mit Kohle beladenen Phagocyten leicht zu Boden. Am besten erreicht man eine gleichmäßige Verteilung, wenn man den ganzen Inhalt des zylindrischen Glasgefäßes in eine mit Glasperle versehene fünf Kubikzentimeter enthaltene Kugelpipette aufsaugt und diese in geeigneter Weise hin- und herbewegt. Die Kugelpipette hat die Gestalt der dem Zählapparat von Zeiß gehörenden Blutpipette. Der obere Teil trägt eine Verengerung wie gebräuchlich bei Pasteurschen Pipetten.

Nach dem Schütteln läßt man den Inhalt des unteren ausgezogenen Glasrohres der Pipette auslaufen; die folgenden Tropfen sind dann zur Anfertigung von mikroskopischen Präparaten geeignet. Die Zählung erfolgt mittels Okularnetzmikrometers und verschiebbarem Objekttisch.

Bei der Auszählung ermittelt Hamburger die Prozentzahl der Leukocyten, die innerhalb einer gewissen Zeit überhaupt Kohlenpartikelchen aufgenommen haben.

Mit diesen Methoden stellte Hamburger den Einfluß an isotonischen Lösungen, der verschiedensten Anionen und Kationen, sowie lipoidlöslicher Substanzen auf die Phagocytose fest

Im Jahre 1913 stellt B. Stuber eine Hemmung der Phagocytose durch freies Cholesterin und Cholesterinester, Aufhebung der hemmenden Wirkung des freien Cholesterin, nicht nur der Ester durch Lezithin, Inaktivierung des Lezithins durch kurzes Erhitzen auf 60—70° fest, sodaß die hemmende Wirkung auch des freien Cholesterin nicht mehr verhindert werden kann, kurz dauernde Immunisierung durch Lezithin gegen die Wirkung des freien Cholesterins.

Quantitative Schwankungen im Lipoidspiegel des Blutes geben bei den einzelnen Infektionen für den Ausfall des phagocytären Prozesses den Ausschlag.

Von diesem Gesichtspunkt ausgehend, suchte er nach einer Methode der Wertbestimmung der Phagocytose. Es erschien ihm weniger wichtig, die Reaktionsfähigkeit der Leukocyten auf einen speziellen Krankheitserreger, wie bei der Wrightschen Methode, als vielmehr die absolute vitale Fähigkeit der Leukocyten zu erfahren. Dazu bedurfte es eines möglichst leicht von den weißen Blutkörperchen aufzunehmenden Körpers von gleichmäßiger Form frei von Toxinwirkung.

Er brachte 0,1 Kubikzentimeter künstliches Serum, 0,1 ccm Ovalbuminlösung, 0,03 ccm Sooraufschwemmung, 0,03 ccm Blut des Patienten in ein kleines Zentrifugiergläschen. Die Zentrifugiergläschen haben einen Inhalt von zwei Kubikzentimeter und sind unten ca. 1 Kubikzentimeter lang kapillär ausgezogen. Es ist wichtig, den Inhalt des Gläschens gut zu mischen; am geeignetsten ist hierzu eine Platinnadel. Dann stellt er das Gläschen dreiviertel Stunden in den Brutschrank bei 37°. Nach Ablauf

dieser Zeit wird zentrifugiert ca. eine Minute bei achthundert Umdrehungen. Allzustarkes und langes Zentrifugieren ist zu vermeiden. Es setzt sich dann die Hauptmasse der roten Blutkörperchen im kapillären Ende ab. Darüber befindet sich die Schicht der Leukocyten und darüber das Serum. Man saugt nun das über den Leukocyten befindliche Serum mit einer Kapillarpipette ab, bricht einfach das kapilläre ca. $^1/_2$cm lange Ende mit den Erythrocyten ab und bläst die im Gläschen zurückgebliebenen Leukocyten auf einen Objektträger, streicht aus und färbt nach Leishman.

In der Regel findet nun Phagocytose nur durch die polymorphkernigen Leukocyten statt; in vereinzelten Fällen findet er auch große mononukleäre und eosinophile Zellen an der Phagocytose beteiligt, aber in so geringem Umfange, daß er dieselben, ohne größere Fehlerquellen zu haben, von der Zählung ausschließt.

Bei Jodmedikation, prämenstruell und die ersten Tage nach der Menstruation tritt Abfall des Phagocytoseindexes ein. Auf der Höhe der Infektion ist ein minderer Index, mit Abklingen der Infektion ein normaler Index vorhanden.

Trotz kritischen Fieberabfalles bei einem Patienten stellte er eine Pseudokrise fest, weil der Index immer weiter abfiel. Erst tags darauf trat ein Steigen des Index ein, und dann auch am übernächsten Tag die wirkliche Krise.

Nach einjährigem Erproben kommt er zu dem Schluß, daß ein niederer Index Schwere der Infektion, Steigen des Index Nahen der Rekonvaleszenz bedeutet. Bedeutungsvoll ist, daß die phagocytäre Kurve immer den Fieberkurven vorauseilt, so daß er sich berechtigt fühlt, prognostisch aus ihr Schlüsse zu ziehen, auch wenn klinisch die Beurteilung des Falles noch zweifelhaft erscheint. Vielfach hält er es für möglich, sich bei Differentialdiagnosen nach dem Ausfall des Index nach der einen oder anderen Seite Seite hin zu entscheiden.

Bei Tuberkulösen erhält er sehr schwankende Werte und nicht allzu selten hohe Indexwerte, sodaß man direkt von einer paradoxen Reaktion sprechen könnte.

Es fällt in allen diesen Fällen auf, daß vor allem die großen mononukleären Zellen enorm an der Phagocytose beteiligt sind, während die polymorphkernigen Leukocyten in dieser Hinsicht

fast ganz zurücktreten. Es handelt sich in diesen Fällen um Tuberkulose mit hochgradiger Lymphocytose.

Das phagocytäre Verhalten ist unabhängig von einer Leukocytose oder Leukopenie. Es kann eine Leukocytose bestehen und niederer phagocytärer Index und umgekehrt Leukopenie mit hohem Index. Es kommt also weniger auf die Quantität der Leukocyten als auf die Qualität jedes einzelnen Leukocyten, auf seine vitale Leistung, an.

In einer Reihe von Fällen gibt H. Schaefer-Hieber 1913 einen Ueberblick über Phagocytose bei akuten Infektionskrankheiten.

Die Versuche sind nach der von Stuber beschriebenen Methode angestellt.

Bei akuten Infektionskrankheiten leidet mit dem Anfang des Fiebers die phagocytäre Kraft des Blutes. Starker Anstieg der phagocytären Kurve zeigt eine günstige Prognose, Ausbleiben der phagocytären Krise eine schlechte Prognose an. Mit der Rekonvaleszenz kehrt die phagocytäre Kraft des Blutes zur Norm zurück. Es besteht kein Parellismus zwischen Hyperleukocytose und phagocytärer Kraft und umgekehrt.

H. Keitler und R. Wolfsgruber, Wien, berichten im Jahre 1916, daß sie in einer Phagocytose zwischen Gesunden und Kranken keinen gesetzmäßigen Unterschied gefunden haben.

Sie verzichten bei ihren Versuchen auf menschliches Blut, weil es ihnen nicht gelingt, genügend Blut zu entnehmen, daß sie zu ihren Versuchen brauchen.

Pferdeblut wird durch Ausströmen aus der Carotis entnommen, im Glaszylinder aufgefangen, in welchem auf drei Teile Blut ein Teil folgender Lösung vorbereitet war:

Natr. zitr. 1,1. Natr. chlor. 0,7, Aqua. dest. 100,0.

Bei einer Temperatur von 4—6° C wird das Blut vier bis fünf Stunden stehen gelassen, bis sich die roten Blutkörperchen abgesetzt haben; die oberste Schicht, welche die Blutplättchen enthält, wird abpipettiert; hierauf wird die nächste, die Leukocyen enthaltende, abgenommen und mit demselben Quantum 0,9 %iger Kochsalzlösung gemischt, durch fünf Minuten bei sechshundert bis achthundert Touren zentrifugiert. Hierauf wird die oberste Schicht abpipettiert. Der Rest wird auf das alte Quan-

tum mit Kochsalzlösung aufgefüllt und diese Prozedur noch zweimal wiederholt. Zuletzt wurde, um die Leukocytenaufschwemmung noch konzentrierter zu gestalten, etwas mehr abpipettiert als dem Quantum der zugesetzten Kochsalzlösung entsprach. Es verblieb jetzt eine Aufschwemmung von Leukocyten nebst einigen wenigen roten Blutkörperchen.

Menschliches Serum wurde mittels Krausescher Nadel aus der gestauten Vena cubiti genommen durchschnittlich 6 -7 Kubikzentimeter. Zwischen 5—7 Uhr abends erfolgte die Blutentnahme, worauf das Röhrchen bei 4—6° C bis zum Morgen stehen blieb. Dann wurde, wenn nötig, der Blutkuchen mit steriler Platinnadel umstochen, und das Serum noch sieben bis acht Stunden stehen gelassen. Hatte es sich dann noch nicht genügend gesetzt, so wurde durch eine Minute bei 1000—2000 Touren zentrifugiert.

Mischung erfolgte im Wägegläschen von 2 Zentimeter Durchmesser und ca. 20 Kubikzentimeter Inhalt. Zu 2 Kubikzentimeter Serum kam 0,5 Kubikzentimeter der Leukozytenaufschwemmung. Nach mehrmaliger Mischung durch Aufziehen in der Pipette kam die Aufschwemmung für zehn Minuten in den Brutschrank bei 37°. Dann wurde ein Tropfen einer Aufschwemmung von Lindenholzkohle zugesetzt, gemischt, dann noch ein Tropfen und abermals gemischt. Darauf kam die Mischung eine Stunde bei 37° in den Brutschrank. Alle Viertelstunde wurde vorsichtig geschüttelt. Hierauf wurde eine halbe bis anderthalbe Stunde bei 4—6° abgekühlt.

Zur Zählung wurde die Aufschwemmung nochmals in der Pipette gemischt und hierauf ein Tröpfchen ausgezählt, wieder gemischt und ein zweiter Tropfen gezählt und in gleicher Weise ein dritter.

Mastzellen wurden von der Zählung ausgeschlossen.

Im Jahre 1917 gibt Helwig, Rostock, ein neues vereinfachtes Verfahren zum Studium der Phagocytose an.

Er nimmt Blut aus der Vene (4 Tropfen), gibt einen Tropfen Hirudin (Hirudinlösung = $^1/_{100}$ g auf 1 Kubikzentimeter physiol. Kochsalzlösung) und einen Tropfen von einer starken Kochsalzemulsion einer zehn Stunden alten Staphylococcus albus Kultur dazu, bringt darauf das Gemisch fünfzehn Minuten in einen

Brutschrank, der auf Körpertemperatur erhitzt ist. Darauf wird ein Tropfen des Gemisches auf einen Objektträger gebracht und nach Lufttrocknung des Präparates wird ausgezählt.

In den folgenden Jahren sind keine Arbeiten auf diesem Gebiete erschienen, die irgendeine Aenderung, Verbesserung oder Vereinfachung der beschriebenen Methoden herbeigeführt haben oder mit diesen Methoden feststehende, grundlegende Resultaté erreicht haben.

Ich habe diese Verfahren alle eingehend angeführt, um die Umständlichkeit und Ungenauigkeit, die ihnen allen anhaftet, deutlich vor Augen zu führen. Denn nicht umsonst wird immer von den technischen Schwierigkeiten gesprochen, wenn es sich um die Prüfung der Phagocytose handelt. Aus diesem Grunde haben sich diese Methoden nie in dem klinischen Gebrauch eingebürgert.

Die jetzt gebräuchlichen Methoden zur Untersuchung des Blutes auf Phagocytose sind die von mir ausführlich beschriebenen von Wright, Hamburger, Stuber, Keitler, Wolfsgruber und Hellwig.

In Wrights Verfahren, das er anwendet wo ein Vergleich bezweckt wird zwischen Blutarten verschiedenen Ursprungs oder Blutproben, die verschieden behandelt worden sind, geht ohne jeden Zweifel, ein großer Teil der natürlichen Beschaffenheit des Blutes verloren, dadurch daß das Blut, die Bakteriensuspension und die Natriumzitratlösung zwecks sorgfältiger Mischung wiederholt auf den Objektivträger ausgestoßen und wieder aufgesogen wird.

Ein weiterer Nachteil ergibt sich dadurch, daß die Präparate von Blut mit allen seinen Bestandteilen hergestellt werden. Da im Mittel auf 350 Blutkörperchen ein Leukocyt kommt und nur ein gewisser Prozentsatz der Leukocyten phagocytieren, muß die Auszählung eine sehr langwierige sein, da annähernd genaue Werte doch nur bei der Auszählung einer großen Zahl von Zellen gewonnen werden können.

Das II. Verfahren, das anzuwenden ist in Versuchen zur gesonderten Erforschung der Rolle der weißen Blutkörperchen und der Blutflüssigkeiten bei Phagocytose und zum Studium, der durch experimentelle Modifikation jedes einzelnen dieser

Elemente hervorgerufenen Wirkung, weist einmal die oben kritisierten Mängel auf und strapaziert außerdem das Blut noch durch Zentrifugieren, Auswaschen zwecks Gewinnung der Leukocyten, um an ihnen Phagocytoseversuche vorzunehmen.

Ferner werden in dem Verfahren einfach die oberen Schichten der Blutkörperchenablagerung als phagocytäres Versuchsmaterial genommen, weil in denen weiße Blutkörperchen in relativ großen Mengen vorhanden sind.

Solange es uns nicht gelingt, sämtliche weiße Blutzellen zur Untersuchung zu gewinnen, muß jede Methode als direkt ungenau und unzureichend angesehen werden.

Hamburger benutzte zu seinen Versuchen Pferdeleukocyten, die von vornherein niemals mit Menschenleukocyten verglichen werden können. Er entnahm 250 und 750 Kubikzentimeter Blut; das sind Mengen, die man höchstens bei therapeutischen Aderlässen Patienten entnehmen könnte

Er untersuchte an defibrinierten und an nicht defibrinierten Blut.

Um zu defibrinieren, mußte das Blut in mit Glasscherben versehenen Flaschen geschüttelt werden, was sicher einen großen nachteiligen Einfluß auf das normale Reagieren des Blutes hat.

Nachdem eine Schichtung des Blutes eingetreten ist, werden die oberste und mittlere Schicht abgesaugt, was große Uebung erfordert, da ein zu langes Warten eine kompakte mittlere Schicht schafft, wodurch ein genaues Differenzieren der Zellen unmöglich wird. Alsdann muß zentrifugiert werden, um die Formelemente auf den Boden zu schleudern. Mehr oder weniger Zellen bleiben immer noch in der über dem Zentrifugat stehenden Flüssigkeit zurück. Alsdann wird das über dem Bodensatz stehende klare oder nahezu klare Serum entfernt. Da noch sehr viele Erythrocyten vorhanden sind, fügt man mehrere Zentrifugate zusammen, läßt $^1/_2$—1 Stunde das Gemisch ruhig stehen, um ein Sedimentieren der Erythrocyten zu erzielen. Es befinden sich schließlich allerdings nur noch wenige rote Blutkörperchen in der Flüssigkeit, die die weißen Blutzellen beherbergt.

Während schon im Beginn des Verfahrens beim Defibrinieren sehr viel Zellen zu Grunde gehen, können bei dieser Strapazierung der Zellen, dieser langen Dauer der Methode zur Ge-

winnung des eigentlichen Phagocytosenmaterials, die Blutzellen höchstens nur noch einen geringen Bruchteil ihrer ehemaligen Lebenskraft aufbringen. Denn erst nach diesem Vorgang wird das so gewonnene Material zu einer Leistungsprüfung mit Kohle zusammengebracht.

Ein anderes Verfahren zur Gewinnung von Leukocyten aus nicht defibriniertem Blut schlägt zuerst E. Hekma vor.

Während Hekmas Methode den Vorteil besitzt, eine fast erythrocytenfreie Leukocytensuspension zu gewinnen und keine Leukocyten zu Grunde gehen zu lassen, gelangt auch er nicht zum Versuchsmaterial, ohne zu zentrifugieren und auswaschen, was doch die natürliche Reaktion der Blutzellen stark beeinflußt.

Das Verfahren von Keitler und Wolfsgruber zeigt im wesentlichen die gleichen Mängel wie Wrights und Hamburgers.

Die vollkommenste aller Methoden ist die von Stuber angegebene.

Er laboriert mit unbehandelten Blut, bringt dieses frische Blut gleich nach der Entnahme mit dem Phagocytosenmaterial zusammen, schließt den Versuch in der denkbar kürzesten Zeit ab. Auswaschen wird vermieden. Die Gewinnung der Leukocyten durch Zentrifugieren geschieht erst, nachdem die Leistungsprüfung der Leukocyten beendet ist und eine Schädigung der Lebenseigenschaften der Zellen nicht mehr ins Gewicht fällt.

Auch Hellwig arbeitet in kürzester Zeit, ohne das Blut künstlich zu beeinflussen. Die Auszählung seiner Präparate erfordert aber viel Mühe und Zeit, da Blut mit allen seinen Bestandteilen verwendet wird und die Phagocyten doch nur einen geringen Bruchteil des Blutes ausmachen.

Meine eigenen Untersuchungen habe ich mittels einer Methode angestellt, die Bönniger kurz auf dem Kongreß für Innere Medizin in Kissingen 1924 beschrieben hat.

„Eine wenige Kubikzentimeter hoch mit Blut beschickte, oben verschlossene Kappillare wird in ein mit wenig Blut gefülltes Gläschen so eingetaucht, daß die Spiegel sich eben berühren. Nach 10 -20 Minuten kann man die fast erythrocytenfreie Kappillare abheben mit den wahrscheinlich auch quantitativ unveränderten Leukocyten und Blutplättchen.“

Im einzelnen: Einem Patienten werden ca. 8 Kubikzentimeter Blut aus der Kubitalvene mittels einer trockenen Rekordspritze von 10 ccm Inhalt, in die wir vor Aufsetzen des Spitzenstempels 0,008 mg Natriumoxylat hineintuen, um die Gerinnung des Blutes zu verhindern, entnommen.

Einige Kubikzentimeter verwenden wir, um die Blutkörperchensedimentierungsgeschwindigkeit zu bestimmen, die übrigen spritzen wir in ein kleines zylindrisches Gefäß, das besser höher als breit ist. Darauf tauchen wir senkrecht in das Blut ein Röhrchen, (am zweckmäßigsten fand ich Röhrchen 3 mm lichter Weite, 10 cm Länge), welches an einem Stativ befestigt ist, so tief ein, daß es eben den Blutspiegel berührt. Das obere Ende des Röhrchens ist mit einem Gummischlauch versehen, durch den wir das Blut $^1/_2$—1 Zentimeter hoch ansaugen und dann durch eine Klemme das Lumen des Schlauches zusammendrücken, um ein Senken der Blutsäule in dem Röhrchen zu verhindern.

Wie es ja allgemein bekannt ist, beginnt beim aufgestellten, nichtgerinnenden Blute alsbald eine Entmischung der Bestandteile. Bei diesem Vorgang senken sich die roten Blutkörperchen zuerst deutlich makroskopisch sichtbar. Nur wenige Minuten dauert es, so bildet sich in dem mit Blut gefüllten Zylindergefäß oben eine Plasmaschicht, durch welche man verhältnismäßig schnell, mit geringem Unterschied bei den einzelnen Blutarten, aus dem am Stativ befestigten, gerade in das Blut tauchenden Röhrchen, die Blutkörperchensäule durchfallen sieht.

Im gleichen Augenblick, wo das Röhrchen frei von roten Blutkörperchen ist, zieht man dasselbe aus der Blutflüssigkeit heraus und hat somit in dem Röhrchen Blut ohne rote Blutkörperchen..

Die so gewonnene, die weißen Zellen enthaltende Blutflüssigkeit behandeln wir nun mit einer gewissen Menge Tierkohle.

Mit einem kleinen Löffel geben wir soviel Kohle zu, bis eine feine gleichmäßige Verteilung vorhanden ist. Darauf wird das Röhrchen in den Brutschrank gelegt, daselbst $^5/_4$ Stunden gelassen, indem es dort in Abständen von zehn Minuten mit der Hand hin- und hergerollt wird, um eine gleiche Mischung von Kohle mit der die weißen Blutzellen enthaltenden Flüssigkeit zu behalten.

Nach dieser Behandlung blasen wir den Röhrcheninhalt auf

einen Objektträger. Die Trocknung und Fixierung erfolgt nach der von van Walsem 1914 angegebenen Zentrifugiermethode, die von Bönniger (noch nicht publiziert) sehr vereinfacht worden ist.

Darauf wird das Präparat nach der kombinierten Färbung May-Giemsa nach Pappenheim gefärbt.

I. Fixation durch Jenner May Grünwald 3 Min.

II. durch Hinzufügen von 2—3 Tropfen Aqu. dest. 2 Min.

III. Abgießen der May-Lösung unter Zufügung einer konzentrierten Giemsalösung (etwa 1 Tropfen Stammlösung auf 1 ccm Aq. dest.) 10 Min.

IV. kräftiges Abspülen in Aqu. dest. lufttrocken werden lassen, betrachten mit Oelimmersion.

Wir versuchten in nicht spezifischer Weise die phagocytären Eigenschaften der Leukocyten des Kranken im allgemeinen an einem gewissen neutralen Objekt zu prüfen. Als solches neutrales Objekt der Phagocytose benutzten wir wie Hamburger in seinen bekannten Untersuchungen Kohle und keine Mikroorgamen, weil in letzteren Fällen die Verhältnisse viel komplizierter liegen.

Die Kohle hat den Vorteil, daß sie kaum einen chemischen Einfluß auf die Phagocyten ausübt. Ferner ist die Kohle leicht und mit Sicherheit inner- oder außerhalb der Zellen zu konstatieren.

Für die Genauigkeit der Versuchsergebnisse ist die Feinheit der Kohle von hervorragender Bedeutung. Sind viel gröbere Teilchen zugegen, so ist eine genaue Zählung geradezu unmöglich. Sowohl die einzelnen Zellen als auch ganze Konglomerate von Zellen werden dann oft dem Auge entzogen.

Sind aber die Kohleteilchen fein und in nicht zu großer Menge anwesend, so bereitet die Zählung der kohlefreien Leukocyten ebensowenig wie die der kohlehaltigen Schwierigkeit. Oft ist die käufliche Kohle zu grob. Man kann dann eine genügende Feinheit durch Zerkleinern im Porzellanmörser erreichen. Die Kohle muß trocken aufbewahrt werden.

Ich machte es mir nun zur Aufgabe, festzustellen, welche Zellen und wieviel Prozent der Zellen Kohlepartikelchen aufgenommen haben.

Verschiedene Monate stellte ich meine Versuche in der beschriebenen Art und Weise an, nur daß ich die Präparate noch nicht mit der Zentrifugiermethode fixierte, sondern entweder lufttrocknete oder entfernt über der Flamme fixierte und trocknete. Dies hatte den Nachteil, daß die Zellen sehr schrumpften und ständig, auch bei der kürzesten Färbedauer, überfärbt waren. Das ganze Präparat nahm einen bläulichen Ton an, in dem die weißen Blutzellen als intensiv blaugefärbte kleine Gebilde lagen, bei denen es nur ungenau entschieden werden konnte, ob sie phagocytiert hatten oder nicht.

Zuerst galt es mir nachzuweisen, ob ich sämtliche weißen Zellen in der gewonnenen Flüssigkeit habe. Zu diesem Zweck fertigte ich von jedem Patienten, an dem ich meine Versuche vornahm, ein Blutausstrichpräparat an und stellte sowohl in dem Blutausstrich als in den mit Kohle behandelten Präparaten eine Differentialzählung an.

In 21 Fällen, bei denen ich zur Kontrolle so verfuhr, fielen meine Differentialzählungen so aus, daß die Unterschiede so klein waren, daß sie als innerhalb in den Grenzen der Beobachtungsfehler gerechnet werden mußten.

Nach diesen Ergebnissen hatte sich unsere Annahme, sämtliche weiße Blutzellen in dem Blutplasma zu haben, bestätigt.

Vierzig Präparate fertigte ich im ganzen an, ohne daß es mir gelang an ihnen mit Sicherheit festzustellen, welche und wieviel Zellen Kohlepartikelchen aufgenommen hatten.

Erst die Anwendung der oben angegebenen Zentrifugiermethode ließ mich Präparate von unübertrefflicher Klarheit erzielen.

Während bei der alten Fixationsmethode das ganze Präparat einen bläulichen Ton zeigt, sind hier nur die Zellen leuchtend gefärbt, der Untergrund fast farblos. Alle Zellen sind größer als wir sie am Blutausstrich beobachten, die Struktur der Kerne viel deutlicher heraustretend.

An vielen Zellen, besonders an den segmentkernigen, neutrophilen Leukocyten und an den Monocyten sind deutliche Pseudopodien vorhanden. Hin und wieder kann man noch den Weg, den die aufgenommenen Kohlepartikelchen genommen haben nachweisen. An diesen Präparaten ist es uns ein Leichtes,

Phagocyten von nicht phagocytierenden Zellen mit absoluter Sicherheit zu unterscheiden.

Die Phagocyten, die Metschnikoff schon 1897 beschreibt, teilt er in Mikrophagen, zu denen er die polymorphkernigen Leukocyten und Wanderzellen zählt, und in Makrophagen ein, zu denen er große einkernige Leukocyten, viele Endothelzellen, Pulpazellen der Milz und des Knochenmarks, einige Bindegewebszellen, in seltenen Fällen auch Nervenzellen (Ganglienzellen bei Lepra), Muskelzellen und Riesenzellen, die aus mehreren einkernigen Phagocyten durch Verschmelzung zu Plasmodien entstanden sind, rechnete.

Stuber gibt, wie oben erwähnt, an, daß in der Regel Phagocytose nur durch die polymorphkernigen Leukocyten, in vereinzelten Fällen durch große mononukleäre Zellen und in ganz geringem Maße durch eosinophile Zellen stattfindet.

Auch H. Schaefer-Hieber fand an erster Stelle als Phagocyten polymorphkernige neutrophile Leukocyten, an zweiter Monocyten und an dritter vereinzelte Eosinophile.

Bei meinen fünfunddreißig nach der beschriebenen Methode hergestellten Präparaten fand ich in überwiegender Mehrzahl segmentkernige neutrophile Phagocyten, dann folgten große mononukleäre Zellen und schließlich in einigen Fällen vereinzelte neutrophile jugendliche Leukocyten.

Die übrigen Zellen, die im normalen Blute vorkommen wie basophile, eosinophile Leukocyten und Lymphocyten hatten niemals Kohlepartikelchen aufgenommen. Wie bei Hamburger war bei unsern Versuchen die Prozentzahl der Zellen, die Kohle innerhalb einer gewissen Zeit, bei uns $1^1/_4$ Stunde, aufgenommen hatten, das Maß für den Grad der Phagocytose. Auf Beschleunigung der Phagocytose wurde nicht geachtet.

Ich gebe hier kurz in nachfolgender Tabelle die Ergebnisse meiner Untersuchungen in Prozenten bei den einzelnen Fällen an

Siehe Tabelle I, II, III, IV.

Die Fieberkurven der Patienten führe ich nicht an, da aus ihnen kein Einfluß auf die Phagocytose zu erkennen ist.

Bei der Lungentuberkulose findet sich im allgemeinen eine erhebliche Verstärkung der Phagocytose.

Auffallend ist, daß bei drei Fällen, bei der Urämie einige

Stunden ante mortem, bei einem alten Mitralvitium ohne Temperaturerhöhungen und ohne sonstigen krankhaften Befund, bei einer fast abgeklungenen Monarthritis nur wenig Zellen phagocytiert haben.

Fall 34, ein kindlicher Diabetes ohne infektiöse Komplikationen, weist niedere Phagocytoseziffern auf, während bei einem alten Diabetes mit schwerer Cystitis und Parotitis sich hohe Werte finden.

Recht aus der Reihe fallend ist der hohe Wert bei einem unkomplizierten Ulcus ventriculi und einem Fall von Arteriosklerose.

Besondere Schlüsse kann man aus dem geringen Material und besonders beim Fehlen von Ergebnissen von gesunden Menschen aus diesen Resultaten noch nicht ziehen. Von einer Gesetzmäßigkeit der Phagocytose kann man daher einstweilen noch nicht sprechen.

Aus äußeren Umständen bin ich augenblicklich verhindert, meine Untersuchungen fortzusetzen.

Ohne jeden Zweifel steht fest, daß die Phagocytose eine der feinsten biologischen Reaktionen ist und als genaues Kriterium für viele Untersuchungen benutzt werden kann, wenn eine einwandfreie, einfache Methode, sie zu beobachten, geschaffen wird. Bei unserer heutigen, noch immer sehr mangelhaften Technik kann man über die wechselnden Ergebnisse nicht erstaunt sein. Nur ein eifriges Bemühen nach einer unkomplizierten, für den klinischen Gebrauch leicht anwendbaren Methode kann von Erfolg gekrönt werden. Ich glaube sagen zu können, mit unserer Methode wieder einen Schritt weiter gekommen zu sein und hoffe, daß sie Brauchbarkeit in sich birgt.

Ihr Vorzug gegenüber den meisten anderen Methoden besteht darin:

1. Untersuchungen im eigenen Milieu.
2. Keine Aenderung der quantitativen Verhältnisse der Zellen.
3. Einfachheit.

Die Auszählung nimmt die denkbar kürzeste Zeit in Anspruch.

Ich hoffe, daß dieses Verfahren die weiteste Verbreitung finden wird. Nur die komplizierten Verfahren sind schuld, daß noch soviel Dunkel auf diesem Gebiete herrscht.

Haben wir erst ein einwandfreies Verfahren, so muß man Hamburger recht geben, daß es wohl kaum ein Objekt gibt wie die Leukocyten, an dem die Lebensäußerungen und die Folgen lebensbeeinflussender Schädlichkeiten so leicht zu studieren sind.

Sechs Fälle von mittelschwerer Lungentuberkulose.

| | Gesamtz. d. Phagocyten in % der weißen Blutkörperchen | Phagocytier. segmentk. neutroph. Leukocyten in % | Pagocytier. Monocyten in % | Phagocytier. jugendliche neutrophile Leukocyten in % |
|---|---|---|---|---|
| 1. Fall | 37,5 | 21,3 | 16,2 | 0,9 |
| 3. Fall | 19,2 | 18,1 | 1,1 | |
| 4. Fall | 50,8 | 48,2 | 2,6 | |
| 2. Fall | 21 | 21 | | |
| 5. Fall | 45,6 | 41,8 | 2,9 | 0,9 |
| 6. Fall | 23,7 | 21,5 | 2,2 | |
| | Sechs Fälle schwerer Lungentuberkulose | | | |
| 7. Fall | 57,7 | 47,4 | 10,3 | |
| 8. Fall | 18,9 | 18,9 | | |
| 9. Fall | 24,3 | 17 | 7,3 | |
| 10. Fall. | 38,7 | 24,3 | 14,4 | |
| 11. Fall | 60 | 50 | 10 | |
| 12. Fall | 21,6 | 19,2 | 2,4 | |
| | | Ischias | | |
| 13. Fall | 26 | 15 | 11 | |
| | Milzruptur mit anschießender Splenektomie | | | |
| 14. Fall | 17,1 | 15,9 | 1,2 | |
| | | Hirntumor ante mortem | | |
| 15. Fall | 12,4 | 11,8 | 0,6 | |
| 16. Fall | 15,4 | 9,7 | 5,7 | |
| | | Monarthritis | | |
| 17. Fall | 7,9 | 7,2 | | 0,7 |
| | | Pleveoperitonitis | | |
| 18. Fall | 26,4 | 21,6 | 4,8 | |
| | | Carcinoma ventriculi | | |
| 19. Fall | 21 | 18,4 | 2 | 0,6 |
| | | Carcinoma mammae | | |
| 20. Fall | 23,4 | 10,8 | 12,6 | |
| | | Arteriosklerose | | |
| 21. Fall | 32,6 | 20,1 | 12,5 | |

| | Gesamtz. d. Phagocyten in % der weißen Blutkörperchen | Phagocytier. segmentk. neutroph. Leukocyten in % | Pagocytier. Monocyten in % | Phagocytier. jugendliche neutrophile Leukocyten in % |
|---|---|---|---|---|
| | | Hysterie | | |
| 22. Fall | 16 | 9 | 7 | |
| | | Mitralvitium | | |
| 23. Fall | 13,3 | 10,8 | 2,5 | |
| | | Pleuraempyem | | |
| 24. Fall | 38,6 | 35,7 | 2,9 | |
| | | Nephrosklerose | | |
| 25. Fall | 4,3 | 1,5 | 2,8 | |
| | | Urämie | | |
| 26. Fall | 25,4 | 23 | 2,4 | |
| | | Ulcus ventriculi | | |
| 27. Fall | 19,7 | 17,6 | 2,1 | |
| 28. Fall | 21,3 | 13,6 | 7,7 | |
| | | Angina lacunaris | | |
| 29. Fall | 6,25 | 6,21 | 0,04 | |
| | | Neurasthenie | | |
| 30. Fall | 18,6 | 16,5 | 2,1 | |
| | | Apoplexia cerebri | | |
| 31. Fall | 29,7 | 23 | 3,1 | 3,6 |
| 32. Fall | 20,6 | 17,2 | 3,4 | |
| 33. Fall | 13,2 | 10,6 | 2,6 | |
| | | Diabetes mellitus | | |
| 34. Fall | 12 | 10,5 | 0,5 | 1 |
| 35. Fall | 38,6 | 38 | 0,6 kompliziert durch schwere Cystitis und Parotitis | |

Herrn Krankenhausdirektor Dr. Bönniger erlaube ich mir, für die Anregung zu dieser Arbeit und die gütige Unterstützung meinen Dank auszusprechen.

## Lebenslauf.

Am 25. Dezember 1900 wurde ich, Johannes Sasse, als Sohn des Lehrers Hermann Sasse zu Berlin-Pankow geboren. Ich besuchte von Ostern 1907 bis Ostern 1910 die Volksschule in Berlin-Pankow, darauf die Oberrealschule zu Berlin-Pankow, bis ich dort am 7. 9. 18 das Notreifezeugnis erhielt. Gleich darauf trat ich bis zum 30. 11. 18 in den Heeresdienst als Musketier im Res. Inf. Reg. Nr. 64. Vom 10. 12. 18 bis Ende Sommersemester 1923 war ich auf der Universität zu Berlin als Studierender der Medizin immatrikuliert. Am 25. 7. 21 bestand ich in Berlin das Physikum, am 30. I. 24. das medizinische Staatsexamen. Vom 1. Februar bis 30. November 1924 war ich als Medizinalpraktikant auf der inneren Abteilung des Krankenhauses Berlin-Pankow, vom 1. XII. 24. bis zum heutigen Tage auf der pathol. anatomisch. Abteilung des Krankenhauses Berlin-Reinickendorf tätig.